

Corresponds to US-Patent No.
5,851,489 in the name of *Micros*



⑯ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

Patentschrift

⑯ DE 44 17 079 C2

⑯ Int. Cl. 6:

G 02 B 21/34

G 01 N 1/28

C 12 Q 1/00

⑯ 3

DE 44 17 079 C2

⑯ Aktenzeichen: P 44 17 079.3-42
⑯ Anmeldetag: 17. 5. 94
⑯ Offenlegungstag: 7. 12. 95
⑯ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 10. 6. 98

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑯ Patentinhaber:

Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der
angewandten Forschung e.V., 80636 München, DE;
Deutsche ITT Industries GmbH, 79108 Freiburg, DE

⑯ Vertreter:

Patent- und Rechtsanwaltssozietät Schmitt,
Maucher & Börjes-Pestalozza, 79102 Freiburg

⑯ Erfinder:

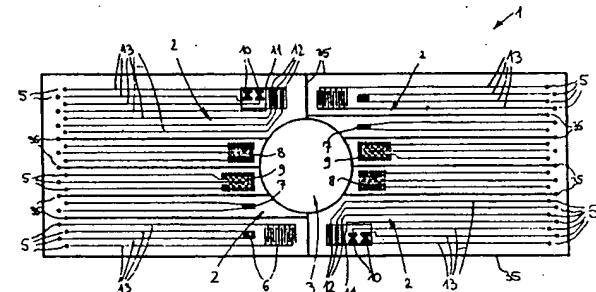
Wolf, Bernhard, Dr., 79252 Stegen, DE; Baumann,
Werner, 79110 Freiburg, DE; Dumbs, Alfred, Dr.,
79104 Freiburg, DE; Sulz, Gert, 7924 Ummkirch, DE;
Sieben, Ulrich, Dr., 79276 Reute, DE

⑯ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

DE 39 24 701 A1
US 49 74 952
US 35 72 892

⑯ Objektträger zum Beobachten von biologischem Material

⑯ Objektträger zum Beobachten von biologischem Material, mit einem Aufnahmebereich (2) und einem Beobachtungsbereich (3) für das biologische Material, wobei der Objektträger im Beobachtungsbereich (3) durchsichtig ausgebildet ist und der Beobachtungsbereich (3) innerhalb des Aufnahmebereiches (2) liegt, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) mehrere in Dünnschichttechnik ausgebildete Planar-Sensoren (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) aufweist, die im Aufnahmebereich (2) benachbart zu dem Beobachtungsbereich (3) angeordnet sind und mehrere physiologische Parameter des biologischen Materials gleichzeitig registrieren.



DE 44 17 079 C2

Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf einen Objektträger nach dem Oberbegriff von Anspruch 1.

Ein solcher bereits aus US 3,572,892 bekannter Objektträger ermöglicht es, eine in dem Aufnahmefeld des Objektträgers angeordnete biologische Substanz zusammen mit dem Objektträger auf einfache Weise auf dem Objektträger eines Mikroskops zu positionieren. Dabei ist der Objektträger im Aufnahmefeld durchsichtig, damit die zu untersuchende Substanz beim Mikroskopieren mit einer Lichtquelle durchleuchtet werden kann.

Nachteilig ist dabei jedoch, daß zur Erzielung eines ausreichenden Vergrößerungsmaßstabes und zur Vermeidung von Abbildungsfehlern im Mikroskop, das zu untersuchende biologische Material beim Mikroskopieren dicht benachbart zum Objektiv des Mikroskops angeordnet sein muß. Das biologische Material, das beispielsweise eine Zellkultur sein kann, ist während des Mikroskopierens nur schwer zugänglich, so daß zusätzliche Untersuchungen an der unter dem Mikroskop nur relativ kurzlebigen Zellkultur kaum möglich sind.

Aus US 4,974,952 kennt man auch bereits eine mikroskopierbare Kultivierungskammer, mit der Zellen während des Kultivierens mit einem Mikroskop beobachtet werden können. Auch hier besteht das Problem, daß die in der Kultivierungskammer befindlichen Zellen schlecht zugänglich sind, was eine weitergehende Untersuchung der Zellen während des Mikroskopierens erschwert. Die Kultivierungskammer weist zwar Temperatursensoren auf, die mit einer Temperaturregulierung zum Regeln der KammerTemperatur verbunden sind, jedoch sind diese außerhalb der Kammer in Nährflüssigkeitskanälen angeordneten Temperatursensoren nicht zum Untersuchen der Zellen geeignet.

Aus DE 39 24 701 A1 ist ferner ein Mikroskopinkubator bekannt, der eine geschlossene Kultivierungs-Kammer zur Aufnahme einer Petrischale mit einer darin befindlichen Zellkultur hat. Der Mikroskopinkubator weist Sensoren auf, die mit einer Steuereinheit zur Regelung des Klimas in der Kultivierungs-Kammer verbunden sind. Diese Sensoren sind jedoch zur Messung von globalen Umgebungsparametern vorgesehen und eignen sich nicht zum Untersuchen der Zellen.

Es besteht deshalb die Aufgabe, einen Objektträger der eingangs genannten Art zu schaffen, bei dem ein Objektiv, eine Beleuchtungseinrichtung oder dergleichen optisches Gerät dicht benachbart zum Aufnahmefeld angeordnet sein kann und bei dem dennoch während der optischen Beobachtung eine weitergehende Untersuchung des biologischen Materials möglich ist.

Diese Aufgabe wird mit den Merkmalen des Patentanspruchs 1 gelöst.

In vorteilhafter Weise wird somit ein Objektträger zur Verfügung gestellt, der mehrere sich sinnvoll ergänzende und gegebenenfalls gegenseitig kontrollierende Sensoren für Messungen beispielsweise von zellulären Prozessen aufweist und eine weitergehende Untersuchung des biologischen Materials ermöglicht, während dieses gleichzeitig optisch beobachtet wird. Dies ermöglicht insbesondere auch eine Korrelation der von den einzelnen Sensoren ermittelten Meßwerte, beispielsweise durch die Erstellung von Ortskurven, so daß die Zuverlässigkeit von Aussagen über das auf dem Objektträger befindliche biologische Material erheblich verbessert ist.

Wegen ihrer geringen Bauhöhe können die Planar-Sensoren in den Objektträger integriert oder auf der Oberfläche des Objektträgers angeordnet sein, so daß Sensor und Objektträger eine Einheit bilden, die besonders gut handhabbar

ist. Dabei ist es sogar möglich, daß die Sensoren wenigstens teilweise in die Oberfläche des Objektträgers eingelassen sind und vorzugsweise bündig an diese anschließen. Im Aufnahmefeld des Objektträgers ergibt sich dadurch eine ebene Aufnahmefläche, auf der sich Testzellen oder dergleichen Zellkulturen gleichmäßig ausbreiten können. Inhomogenitäten in der Zellkultur, wie sie beispielsweise bei Unebenheiten oder an einer Stufe oder einem Absatz im Aufnahmefeld auftreten können, werden dadurch vermieden. Besonders vorteilhaft wirkt sich die geringe Bauhöhe der Sensoren auch beim Mikroskopieren aus, da das Objektiv oder die Kondensorlinse eines Mikroskops bis dicht an das im Aufnahmefeld des Objektträgers angeordnete biologische Material herangeführt werden kann, ohne daß das Objektiv oder die Kondensorlinse durch den Sensor behindert wird.

Als Sensoren können beispielsweise ein Ionenkonzentrations-Sensor zur Messung von H^+ -, Na^+ -, Ca^{2+} -, K^+ - oder Cl^- -Ionen, ein Sauerstoffsensor, ein NO-Sensor, ein CO_2 -Sensor, ein Temperatursensor, ein Interdigitalkondensator oder Referenz-Elektroden vorgesehen sein. Je nach Anwendung kann der Objektträger mit weiteren, insbesondere auch optischen Sensoren, wie z. B. Gitter-Kopplern, bestückt sein.

Mit dem erfindungsgemäßen Objektträger sind wichtige physikalisch-chemische Kenngrößen des zu untersuchenden biologischen Materials einer Messung zugänglich, während gleichzeitig dessen Beobachtung, beispielsweise mit einem Mikroskop oder einer Kamera möglich ist. Der Objektträger eignet sich besonders zur Überwachung und/oder Messung der Reaktion von biologischem Material auf verschiedene äußere chemische (z. B. Zytostatika, Ionenkonzentrationsveränderungen, Pharmaka, Umweltgifte, Waschsubstanzen), physikalische (z. B. Temperaturveränderungen, elektromagnetische Felder, Bestrahlungen, Beschleunigungen) sowie biologische (z. B. Antigene, Viren, Bakterien, Nährmediumsänderungen) Reize. Der Objektträger kann sowohl zu wissenschaftlichen Zwecken eingesetzt werden, als auch als Bio-Sensor Verwendung finden, beispielsweise bei der Gewässerkontrolle, wobei eine Probe des zu untersuchenden Wassers mit auf dem Objektträger befindlichen Testzellen in Berührung gebracht wird und die Reaktion der Testzellen mittels der Sensoren und gegebenenfalls durch optische Beobachtung ermittelt wird.

Die einzelnen Sensoren können mit einer Auswerteeinheit, beispielsweise einem Mikrocomputer verbunden sein, die eine automatische Auswertung oder Analyse, insbesondere von komplexen physiologischen Vorgängen ermöglicht. Dabei können auch die mikroskopischen Daten berücksichtigt werden, wenn beispielsweise an dem Mikroskop eine CCD-Kamera angeschlossen ist, die mit einer Schnittstelle mit dem Mikrocomputer verbunden ist und der Mikrocomputer mit Methoden der Bildverarbeitung geeignete Kriterien zur Beurteilung der Mikroskopbilder ermittelt.

Eine Weiterbildung der Erfindung sieht vor, daß mehrere Sensoren am Umfang des Beobachtungsbereiches verteilt, vorzugsweise auf einem Kreis, dem Beobachtungsbereich benachbart angeordnet sind. Dadurch ergibt sich ein kompakt aufgebauter Objektträger, der dennoch eine gute optische Beobachtung des biologischen Materials beispielsweise mit einem Mikroskop ermöglicht.

Zweckmäßigerweise sind an dem Objektträger elektrische Anschlüsse oder Kontaktflächen zum Abgreifen von Meßwerten, Meßsignalen und/oder zur Stromversorgung der Sensoren vorgesehen. Der Objektträger kann dann auf einfache Weise mit einer externen Auswerteeinheit zum Zwischenspeichern, Anzeigen oder Verarbeiten der mit den

Sensoren detektierten Meßwerte verbunden werden. Dabei ist der Objektträger leicht austauschbar, so daß mehrere Objektträger nacheinander mit derselben Auswerteeinheit verbunden werden können.

Vorteilhaft ist, wenn wenigstens ein Sensor als integrierte Schaltung mit Feldefekttransistoren ausgebildet ist. Solche Sensoren weisen eine gute Sensitivität auf und sind mit Mitteln der Halbleitertechnik in Großserie preiswert herstellbar. Feldefekttransistoren eignen sich besonders für eine Integration zur zellpotentialmessung, wobei Interdigitalkondensatoren sowie weitere Sensoren (ISFET's) auf dem Chip integriert werden können.

Zweckmäßigerweise sind an der Oberfläche des Objektträgers Leiterbahnen vorgesehen, die beispielsweise aufgedruckt, aufgedampft und/oder wenigstens teilweise in die Oberfläche versenkt sind. Die Sensoren können dann auf einfache Weise, ähnlich wie bei einer Platine, mit den Leiterbahnen untereinander sowie mit den Kontaktflächen und evtl. weiteren, an dem Objektträger vorgesehenen elektronischen Bauelementen verbunden werden.

Eine Ausführungsform der Erfindung sieht vor, daß der Objektträger bis auf den Beobachtungsbereich im wesentlichen aus Silizium besteht, daß die Sensoren Silizium-Halbleiter sind und in das Silizium des Objektträgers integriert sind. Dadurch ergibt sich ein besonders kostengünstig in Großserie herstellbarer Objektträger, bei dem mehrere, vorzugsweise alle Sensoren, in einem gemeinsamen Chip integriert sein können. Der Chip kann dann im Beobachtungsbereich einen Durchbruch aufweisen, in den ein Glasfenster oder ein Kunststofffenster aus biologisch inertem hochtransparenten Material, beispielsweise Polycarbonat, einsetzbar ist.

Eine Weiterbildung der Erfindung sieht vor, daß der Objektträger zur Verarbeitung und/oder Auswertung der Sensorsignale einen Mikroprozessor, insbesondere einen Signalprozessor aufweist. Die einzelnen Anschlüsse für die Sensoren brauchen dann nicht getrennt nach außen geführt zu werden, sondern können auf dem Objektträger, beispielsweise mit Leiterbahnen, mit dem Mikro- oder Signalprozessor verbunden sein, der die Meßwerte der Sensoren digitalisiert und über eine beispielsweise serielle Schnittstelle, die an entsprechenden Anschlußkontakte an dem Objektträger zugänglich ist, nach außen weiterleitet. Der Objektträger braucht dann nur einige wenige externe Anschlüsse aufzuweisen, mit denen sämtliche auf dem Objektträger befindlichen Sensoren ansteuerbar und/oder auslesbar sind. Der Mikro- oder Signalprozessor ermöglicht dabei auch eine Meßwertverarbeitung, beispielsweise eine Filterung, Korrelation, Glättung oder Zwischenspeicherung von Meßwerten. Außerdem können in dem Prozessor Nichtlinearitäten der Sensoren, beispielsweise unter Berücksichtigung von Kennlinien oder einer möglicherweise vorhandenen Temperaturdrift, berücksichtigt werden.

Damit der photoelektrische Effekt bei Beleuchtung des Objektträgers in den Halbleitern der Sensoren keine Verfälschung der Meßwerte bewirkt, ist es vorteilhaft, wenn die Sensoren gegen Licht abgeschirmt sind und wenn hierzu insbesondere eine lichtundurchlässigen, vorzugsweise schwarze Schicht vorgesehen ist. Wenn der Objektträger einen Kammerabschluß aufweist und ggf. eine solche Lichtabschirmung an der Ober- und an der Unterseite der Sensoren vorgesehen ist, eignet sich der Objektträger sowohl für Messungen an inversen, als auch an nichtinversen Mikroskopien. Das biologische Material kann also wahlweise entweder an seiner dem Objektträger abgewandten Oberseite oder durch den Objektträger hindurch an seiner Unterseite mikroskopiert werden.

Damit das auf dem Objektträger befindliche biologische

Material möglichst genau auf Normaltemperatur (bei Säugerzellen 37,0°C) gehalten werden kann, ist es vorteilhaft, wenn der Objektträger temperierbar ist.

Besonders günstig ist, wenn der Objektträger eine temperaturgeregelte Dünnschichtheizung aufweist und wenn diese vorzugsweise an einer dem Aufnahmebereich abgewandten Außenseite des Objektträgers vorgesehen ist. Bei einem als rechteckige Scheibe ausgebildeten Objektträger, bei dem der Aufnahmebereich an einer Flachseite angeordnet ist, ist also die Dünnschichtheizung an der dieser Flachseite abgewandten Flachseite vorgesehen. Der Objektträger und das darauf befindliche biologische Material sind dadurch besonders gleichmäßig, praktisch an der gesamten Flachseite des Objektträgers, beheizbar. Zur Temperaturregelung der Dünnschichtheizung kann der Objektträger einen Temperatursensor aufweisen, der vorzugsweise innerhalb des Aufnahmebereiches und benachbart zu dem Beobachtungsbereich angeordnet ist.

Zum Fixieren des Objektträgers, beispielsweise am Objekttsch eines Mikroskops, kann eine Halterung vorgesehen sein. Vorteilhaft ist, wenn die Halterung temperierbar ist und in Gebrauchsstellung thermisch gut leitend, vorzugsweise mittels einer den Objektträger unterseitig berührenden, wärmeübertragenden Haltefläche, mit dem Objektträger verbunden ist. Der Objektträger ist mittels der Halterung temperierbar und braucht deshalb keine eigene Heizung aufzuweisen.

Zur Temperierung des Objektträgers kann die Halterung einen Flüssigkeitskanal oder eine Hohlwand für Temperierflüssigkeit, mit einem Flüssigkeitszulauf und einem Flüssigkeitsablauf aufweisen. Der Flüssigkeitskanal läßt sich dann mit einer Umwälzpumpe mit einem thermostatisch geregelten Wasserbad oder einem Wasserkreislauf verbinden, so daß das zu untersuchende Zellmaterial sehr exakt auf einer vorgegebenen Temperatur gehalten werden kann.

Eine andere Ausführungsform sieht vor, daß die Halterung eine thermostatisch geregelte Elektroheizung aufweist. Eine solche Elektroheizung kann beispielsweise mit einem Halbleiter-Temperatursensor geregelt sein, mit dem die Temperatur des Halters und des damit verbundenen Objektträgers mit großer Genauigkeit eingestellt werden kann.

Vorteilhaft ist, wenn zum Abgreifen von elektrischen Signalen, insbesondere der Sensoren und/oder zur Stromeinspeisung ein auf die Kontaktflächen des Objektträgers aufsetzbares oder andrückbares Kontaktstück mit zu den Kontaktflächen des Objektträgers passenden Gegenkontakte vorgesehen ist. Mit einem solchen Kontaktstück können die externen elektrischen Verbindungen für mehrere Sensoren gleichzeitig, praktisch mit einem Handgriff, hergestellt werden.

Besonders vorteilhaft ist, wenn der Objektträger in ein geformtes DIL- oder PLCC IC-Gehäuse integriert oder mit diesem verbunden ist. Das IC-Gehäuse des Objektträgers kann dann zum elektrischen Verbinden der Sensoren, beispielsweise mit einer externen Auswerteeinheit, auf einfache Weise in einen IC-Sockel eingesetzt werden. Dabei ist der Beobachtungsbereich des Objektträgers vorzugsweise mittig zur Flachseite des IC-Gehäuses angeordnet, damit der zwischen den Kontaktreihen des IC-Sockels vorhandene Freiraum für eine Beobachtung und/oder eine Beleuchtung des biologischen Materials genutzt werden kann.

Eine Weiterbildung der Erfindung sieht vor, daß der Objektträger einen Kammerabschluß aufweist, der den Aufnahmebereich des Objektträgers seitlich dicht umschließt und zusammen mit diesem eine im wesentlichen geschlossene Kultivierungs-Kammer begrenzt, daß der Kammerabschluß ein Beobachtungs- und/oder Beleuchtungs-Fenster aufweist und wenigstens eine Einlaßöffnung sowie eine

Auslaßöffnung für eine Nährflüssigkeit hat. In vorteilhafter Weise kann dadurch das in der Kammer befindliche biologische Material, beispielsweise Testzellen, über einen längeren Zeitraum hinweg, beispielsweise länger als 10 Minuten, auf dem Mikroskop-Objektivtisch unter definierten äußeren Bedingungen vital erhalten werden. Dies ermöglicht insbesondere eine noch bessere Untersuchung dynamisch sich verändernder Zellprozesse.

Zweckmäßigerweise ist vorgesehen, daß das Fenster einstückig mit dem Kammerabschluß ausgebildet ist und vorzugsweise aus biologisch inertem, hochtransparenten Kunststoff besteht. Der Kammerabschluß kann dann besonders einfach, beispielsweise als Polykarbonat-Körper mit etwa rechteckiger Außenkontur hergestellt sein, in den das Fenster integriert ist. Dabei wird bevorzugt ein thermisch gut leitender Kunststoff verwendet, damit das biologische Material besser temperiert werden kann.

Besonders günstig ist, wenn das Fenster in einer in die Oberseite des Kammerabschlusses vorgesehenen Vertiefung angeordnet ist. In der Vertiefung kann dann eine Kondensorlinse mit hoher Apertur bis dicht an das biologische Material herangeführt werden.

Vorteilhaft ist, wenn der Kammerabschluß Aufnahmevertiefungen hat, in die zusätzliche Sensoren mit Sensorhaltern lösbar einsetzbar, vorzugsweise einschraubar oder einsteckbar sind. In die Kammer können dadurch zusätzliche Sensoren eingeführt werden, die auf dem Objektträger nicht vorgesehen sind. Diese Sensoren sind beliebig austauschbar, so daß die Kammer, je nach Anwendungsfall, mit der gewünschten Sensor-Konfiguration bestückt werden kann. Besonders vorteilhaft ist dabei, daß auch seltener benötigte Sensoren, bei denen sich eine Integration in den Objektträger nicht lohnt, zur Messung verwendet werden können.

Besonders günstig ist, wenn die Dünnschicht- oder Planar-Sensoren an einer der Kammer zugewandten Wandung des Kammerabschlusses vorgesehen sind. Die Kammer kann dann als Miniatur-Kammer besonders kompakt aufgebaut werden, so daß auch kleinste Mengen biologischen Materials für eine Messung mit den Sensoren ausreichen. Dabei ermöglichen die an dem Objektträger angeordneten Sensoren, welche vorzugsweise direkt mit dem zu untersuchenden Zellmaterial in Berührung stehen oder von den Zellen bewachsen sind, eine Detektion der chemisch-physikalischen Eigenschaften des Zellmaterials, während die in der Nährlösung angeordneten Dünnschicht- oder Planar-Sensoren des Kammerabschlusses besonders zur Messung von Nährflüssigkeitsparametern geeignet sind.

Zweckmäßigerweise ist vorgesehen, daß der Objektträger einen am Umfang des Aufnahmebereiches umlaufenden, nach oben überstehenden Halterand aufweist, der eine bis zum Aufnahmebereich reichende Öffnung umschließt, und daß der Kammerabschluß lösbar in die Öffnung einsetzbar ist. Die Kammer ist dann, beispielsweise zum Einbringen des biologischen Materials nach Entfernen des Kammerabschlusses gut zugänglich. Am Umfang des Kammerabschlusses kann eine Dichtung vorgesehen sein, die in Funktionsstellung innenseitig an dem umlaufenden Rand anliegt und das Kammerinnere nach außen abdichtet.

Vorteilhaft ist, wenn der Objektträger im wesentlichen als rechteckige Scheibe ausgebildet ist und wenn der Aufnahmebereich an einer Flachseite des Objektträgers vorgesehen ist. Der Objektträger kann dann die Form eines handelsüblichen Standard-Objektträgers aufweisen, so daß dieser mit den an den Objektträgern der meisten Mikroskope vorgesehenen Haltevorrichtungen problemlos festlegbar ist.

Besonders günstig ist, wenn an dem Objektträger, vorzugsweise an dessen Oberseite, benachbart zu den schmalseitigen Rändern, wenigstens eine Aufnahmevertiefung zum

Einsetzen eines Kontaktstückes vorgesehen ist. Die elektrischen Kontakte des Kontaktstückes sind dadurch in Funktionsstellung besonders genau zu den Gegenkontakten des Objektträgers ausgerichtet. Um ein versehentliches Herausziehen oder Lösen des Kontaktstückes aus der Aufnahmevertiefung zu verhindern, kann zwischen dem Kontaktstück und der Aufnahmevertiefung außerdem eine Rastverbindung vorgesehen sein.

Zweckmäßigerweise ist vorgesehen, daß der Aufnahmebereich zur Kultivierung nicht-adhärenter Zellen eine Oberflächenstruktur, insbesondere eine Lamellen- oder Gitterstruktur, aufweist. Nichtadhärente Zellen können dann im Durchflußbereich der Nährflüssigkeit nicht so leicht von dem Nährflüssigkeitsstrom mitgerissen oder weggespült werden.

Nachfolgend sind Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Zeichnung näher erläutert.

Es zeigen in unterschiedlichen Maßstäben und zum Teil stärker schematisiert:

20 Fig. 1 eine Aufsicht auf den erfindungsgemäßen Objektträger, welche die um den Beobachtungsbereich angeordneten Sensoren und die diese mit den Kontaktflächen verbindenden Leiterbahnen besonders gut erkennen läßt,

25 Fig. 2 eine Aufsicht auf einen in eine beheizbare Halterung eingesetzten Objektträger, der einen am Umfang des Aufnahmebereiches umlaufenden Halterand für einen Kammerabschluß aufweist und

30 Fig. 3 einen Längsschnitt durch den in die Halterung eingesetzten Objektträger mit einem Kammerabschluß und mit beidseitig des Kammerabschlusses in Aufnahmevertiefungen eingesetzten Kontaktstücken für die elektrischen Anschlüsse der Sensoren.

Ein Objektträger 1 für ein Mikroskop, eine Kamera oder dergleichen Beobachtungseinrichtung weist einen Aufnahmebereich 2 für Testzellen oder dergleichen biologischem Material sowie einen gegenüber dem Aufnahmebereich 2 kleineren Beobachtungsbereich 3 für das biologische Material auf. Der Aufnahmebereich 2 und der Beobachtungsbereich 3 sind an der oberen Flachseite 4 des Objektträgers 1 angeordnet, wobei der Beobachtungsbereich 3 durch einen mittig zu der Flachseite 4 angeordneten, kreisrunden Teilbereich des Objektträgers 1 gebildet wird. Innerhalb des Beobachtungsbereiches 3 besteht der Objektträger 1 aus einem durchsichtigen, hochtransparenten Werkstoff, so daß das im Beobachtungsbereich 3 befindliche biologische Material durch den Objektträger 1 hindurch beleuchtet und/oder mikroskopiert werden kann.

Der Objektträger 1 weist innerhalb des Aufnahmebereiches 2 und benachbart zu dem Beobachtungsbereich 3 folgende Dünnschichtsensoren auf: Vier Interdigitaalkondensatoren 6, zwei Pt 100-Dünnschicht temperatursensoren 7, zwei NO-Sensoren, zwei O₂-Sensoren, zwei Zellpotential-sensoren mit FET's, zwei Temperatursensoren sowie sechs ISFET's. Selbstverständlich sind – je nach Anwendung – auch andere Sensor-Konfigurationen möglich.

In vorteilhafter Weise können durch die zahlreichen, an dem Objektträgers 1 vorgesehenen Sensoren 6 bis 12, die dicht benachbart zu dem biologischen Material angeordnet sind oder mit diesem in Berührung stehen, während der Beobachtung mit einem Mikroskop Messungen der chemisch-physikalischen Eigenschaften des biologischen Materials durchgeführt werden, die zusätzliche Informationen, beispielsweise über zytophysiologische Abläufe in dem biologischen Material ermöglichen. Dabei kann eine Kondensorlinse eines Mikroskops oder ein Objektiv mit hoher Apertur dicht benachbart zu dem Beobachtungsbereich 3 angeordnet sein, ohne daß dieses durch die Sensoren 6 bis 12 behindert wird. Durch Korrelation der mit den einzelnen Sensoren ge-

wonnenen Meßergebnisse sowie gegebenenfalls durch Vergleich mit den durch optische Beobachtung erhaltenen Informationen kann die Zuverlässigkeit von Aussagen über den Zustand des auf dem Objektträger 1 befindlichen immobilisierten biologischen Zellmaterials verbessert werden. Der Objektträger 1 kann sowohl zu Forschungszwecken, als auch als Bio-Sensor verwendet werden.

Die Sensoren 6 bis 12 sind zumindest teilweise in die Oberfläche des Objektträgers 1 eingelassen und schließen vorzugsweise bündig an diese an. Auf dem Objektträger 1 befindliche Zellkulturen können sich dadurch gleichmäßig über den gesamten Aufnahmehbereich 2 ausbilden, ohne daß sie durch Unebenheiten, Absätze oder Stufen im Aufnahmehbereich 2 behindert werden.

Die Sensoren 6 bis 12 sind in Dünnschicht-Technik als Integrierte Schaltungen mit Feldeffekttransistoren ausgebildet, die mit Methoden der Halbleitertechnik in Großserie kostengünstig herstellbar sind.

An dem Objektträger 1 sind ferner elektrische Kontaktflächen 5 zum Abgreifen von Meßwerten, Meßsignalen und/oder zur Stromversorgung der Sensoren 6 bis 12 vorgesehen. Die Kontaktflächen 5 sind an den schmalseitigen Rändern der oberen Flachseite 4 des Objektträgers 1 angeordnet und sind mit Leiterbahnen 13 elektrisch mit den Sensoren 6 bis 12 verbunden. Die Leiterbahnen 13 können beispielsweise aufgedruckt, aufgedampft oder mit photo-chemischen Verfahren auf die Oberfläche des Objektträgers 1 aufgebracht sein. Zwischen den Sensoren 6 bis 12 sowie um den Beobachtungsbereich 3 herum sind Masse-Verbindungen 35 vorgesehen, die eine Abschirmung der Sensoren 6 bis 12 bewirken.

Zum Fixieren des Objektträgers 1 ist eine Halterung 14 vorgesehen, die eine Aufnahmevertiefung aufweist, in die der Objektträger 1 einsetzbar ist (Fig. 3). Die Halterung 14 hat einen am Außenumfang umlaufenden Flüssigkeitskanal 15 mit einem Flüssigkeitszulauf 16 und einem Flüssigkeitsablauf 17. Der Flüssigkeitszulauf 16 und Flüssigkeitsablauf 17 weisen jeweils einen Anschlußstutzen 18, 19 auf, mit denen der Flüssigkeitskanal 15 mit einem thermostatisch geregelten Wasserkreislauf oder einem temperierbaren Wasserbad verbindbar ist. Die Halterung 14 und der damit verbundene Objektträger 1 können dadurch sehr exakt temperiert werden, so daß das biologische Material auf einer praktisch konstanten Temperatur von beispielsweise 37,0°C gehalten werden kann. Die Halterung 14 besteht im wesentlichen aus einem thermisch gut leitenden, korrosionbeständigen Werkstoff (Edelstahl) und weist im Bereich ihrer Aufnahmevertiefung einen Haltesteg 20 mit einer wärmeübertragenden Haltefläche 21 auf, die in Funktionsstellung großflächig an der unteren Flachseite 36 des Objektträgers 1 anliegt und daher eine gute Wärmeübertragung auf den Objektträger 1 ermöglicht. Unterhalb des Beobachtungsbereichs 3 ist in dem Haltesteg 20 ein kreisrunder Durchbruch 38 vorgesehen.

Bei dem in Fig. 2 und 3 dargestellten Ausführungsbeispiel weist der Objektträger 1 einen am Umfang des Aufnahmehbereiches 2 umlaufenden, nach oben über den Aufnahmehbereich 2 überstehenden Halterand 22 auf, der eine bis zum Aufnahmehbereich 2 reichende Öffnung umschließt, in die ein Kammerabschluß 23 einsetzbar ist. Der Halterand 22 schließt seitlich zum Aufnahmehbereich 2 dicht an den Objektträger 1 an und kann beispielsweise durch einen aufgeklebten Kunststoffrahmen oder als aufgespritztes Kunststoffteil realisiert sein. Der Kammerabschluß 23 hat ferner einen in einer Nut umfangsseitig umlaufenden Dichtring 24, der in Funktionsstellung gegen die Innenfläche 25 des Halterandes 22 abdichtet, so daß zwischen dem Kammerabschluß 23 und dem Objektträger 1 ein im wesentlichen geschlossenes Kamervolumen eingeschlossen wird.

Der Kammerabschluß 23 weist ferner ein benachbart zu dem Beobachtungsbereich 3 angeordnetes Beobachtungs- und/oder Beleuchtungs-Fenster 26 auf, durch das das in der Kammer 27 befindliche biologische Material, beispielsweise mit einem Mikroskop, betrachtet werden kann.

Der Kammerabschluß 23 hat außerdem eine Einlaßöffnung 28 und eine Auslaßöffnung 29 zum Austauschen einer in der Kammer 27 vorgesehenen Nährflüssigkeit. Das in der Kammer 27 befindliche Zell- oder Gewebematerial kann dadurch über eine längere Zeit, unter praktisch konstanten äußeren Bedingungen, vital erhalten werden. Zur Reduzierung der von der Nährflüssigkeitsströmung, auf die in der Kammer 27 befindlichen Zellen ausgeübten Scherkräfte können weitere Einlaßöffnungen 28 und/oder Auslaßöffnungen 29 vorgesehen sein.

Das Fenster 26 ist einstückig mit dem Kammerabschluß 23 ausgebildet und besteht aus biologisch inertem hoch-transparentem Kunststoff. Der Kammerabschluß 23 ist dadurch besonders kostengünstig herstellbar. Das Fenster 26 ist in einer in die Oberseite des Kammerabschlusses 23 eingelassenen Vertiefung 30 angeordnet, so daß eine Kondensorlinse oder ein Objektiv mit großem Aperturwinkel bis dicht an das zu untersuchende Zellmaterial herangeführt werden kann.

Der Kammerabschluß 23 hat außerdem Aufnahmöffnungen 31, in die zusätzliche Sensoren 32 mit Sensorhaltern lösbar einsetzbar sind. Die aus dem Objektträger 1, dem Halterand 22 und dem Kammerabschluß 23 gebildete Vorrichtung ist dadurch noch flexibler einsetzbar, wobei die Sensorkonfiguration auf einfache Weise durch Austauschen der in die Aufnahmöffnungen 31 eingesetzten Sensoren 32 an die jeweilige Meßaufgabe angepaßt werden kann. Dabei können zum Verschließen nichtbenötigter Aufnahmöffnungen 31 Verschlußstopfen vorgesehen sein.

Zum Abgreifen von elektrischen Signalen, insbesondere der Sensoren 6 bis 12 und/oder zur Stromeinspeisung weist der Objektträger 1 zwei Kontaktstücke 33 mit zu den Kontaktflächen 5 des Objektträgers 1 passenden Gegenkontakten auf.

Der Objektträger 1 hat ferner an seiner Oberseite, benachbart zu seinen schmalseitigen Enden, jeweils eine Aufnahmevertiefung 34 für ein Kontaktstück 33. Die Kontaktstücke 33 können dadurch auf einfache Weise relativ zu dem Objektträger 1 positioniert werden, wobei die Kontaktflächen 5 des Objektträgers 1 mit den Gegenkontakten des Kontaktstückes 33 in Berührung geraten. Die Kontaktstücke 33 weisen einen asymmetrischen Querschnitt auf, der ein versehentliches, spiegelverkehrtes Einsetzen der Kontaktstücke 33 in die Aufnahmöffnungen 31 verhindert.

An der Oberseite der Halterung 14 ist eine Abdeckung 37 vorgesehen, die bereichsweise über den Halterand 22 und die in die Aufnahmevertiefungen 34 eingesetzten Kontaktstücke 33 übersteht. Die Abdeckung 37 ist mit einer Halteklammer (nicht dargestellt) mit der Halterung 14 verbindbar, so daß der Objektträger 1, die Kontaktstücke 33, die Halterung 14 und die Abdeckung 37 dann formschlüssig zu einer leicht transportierbaren Einheit verbunden sind.

Patentansprüche

1. Objektträger zum Beobachten von biologischem Material, mit einem Aufnahmehbereich (2) und einem Beobachtungsbereich (3) für das biologische Material, wobei der Objektträger im Beobachtungsbereich (3) durchsichtig ausgebildet ist und der Beobachtungsbereich (3) innerhalb des Aufnahmehbereiches (2) liegt, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) mehrere in Dünnschichttechnik ausgebildete Planar-

Sensoren (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) aufweist, die im Aufnahmehbereich (2) benachbart zu dem Beobachtungsbereich (3) angeordnet sind und mehrere physiologische Parameter des biologischen Materials gleichzeitig registrieren.

5

2. Objektträger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere Planar-Sensoren (6 bis 12) am Umfang des Beobachtungsbereiches (3) verteilt, vorzugsweise auf einem Kreis, dem Beobachtungsbereich (3) benachbart angeordnet sind.

10

3. Objektträger nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß an dem Objektträger (1) elektrische Anschlüsse oder Kontaktflächen (5) zum Abgreifen von Meßwerten, Meßsignalen und/oder zur Stromversorgung der Planar-Sensoren (6 bis 12) vorgesehen sind.

15

4. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß wenigstens ein Planar-Sensor (6 bis 12) als integrierte Schaltung mit Feldeffekttransistoren ausgebildet ist.

20

5. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß an der Oberfläche des Objektträgers (1) Leiterbahnen (13) vorgesehen sind, die beispielsweise aufgedruckt, aufgedampft und/oder wenigstens teilweise in die Oberfläche versenkt sind.

25

6. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) bis auf den Beobachtungsbereich (3) aus Silizium besteht, daß die Planar-Sensoren (6 bis 12) Silizium-Halbleiter sind und in das Silizium des Objektträgers (1) integriert sind.

30

7. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Planar-Sensoren (6 bis 12) gegen Licht abgeschirmt sind und daß dazu insbesondere eine lichtundurchlässige, vorzugsweise schwarze Schicht vorgesehen ist.

35

8. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) zur Verarbeitung und/oder Auswertung der Sensorsignale einen Mikroprozessor, insbesondere einen Signalprozessor aufweist.

40

9. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) temperierbar ist.

10. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) eine temperaturgeregelte Dünnschichtheizung aufweist und daß diese vorzugsweise an einer dem Aufnahmehbereich (2) abgewandten Außenseite des Objektträgers (1) vorgesehen ist.

45

11. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß zum Fixieren des Objektträgers (1) eine Halterung (14) vorgesehen ist.

12. Objektträger nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Halterung (14) temperierbar ist und in Gebrauchsstellung thermisch gut leitend, vorzugsweise mittels einer den Objektträger (1) unterseitig berührenden, wärmeübertragenden Haltefläche (21) mit dem Objektträger (1) verbunden ist.

55

13. Objektträger nach einem der Ansprüche 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Halterung (14) einen Flüssigkeitskanal (15) oder eine Hohlwand für Temperierflüssigkeit, mit einem Flüssigkeitszulauf (16) und einem Flüssigkeitsablauf (17) aufweist.

14. Objektträger nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Halterung (14) eine thermostatisch geregelte Elektroheizung aufweist.

15. Objektträger nach Anspruch 3, dadurch gekenn-

zeichnet, daß zum Abgreifen von elektrischen Signalen, insbesondere der Planar-Sensoren (6 bis 12), und/oder zur Strom einspeisung ein auf die Kontaktflächen (5) des Objektträgers (1) aufsetzbares oder andrückbares Kontaktstück (33) mit zu den Kontaktflächen (5) des Objektträgers (1) passenden Gegenkontakten vorgesehen ist.

16. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) in ein genormtes DIL- oder PLCC IC-Gehäuse integriert oder mit diesem verbunden ist.

17. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß ein Kammerabschluß (23) vorgesehen ist, der den Aufnahmehbereich (2) des Objektträgers (1) seitlich dicht umschließt und zusammen mit diesem eine geschlossene Kultivierungs-Kammer (27) begrenzt, daß der Kammerabschluß (23) ein Beobachtungs- und/oder Beleuchtungs-Fenster (26) aufweist und wenigstens eine Einlaßöffnung (28) sowie wenigstens eine Auslaßöffnung (29) für eine Nährflüssigkeit hat.

18. Objektträger nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß das Fenster (26) einstückig mit dem Kammerabschluß (23) ausgebildet ist und vorzugsweise aus biologisch inertem, hochtransparentem Kunststoff besteht.

19. Objektträger nach einem der Ansprüche 17 oder 18, dadurch gekennzeichnet, daß das Fenster (26) in einer in der Oberseite des Kammerabschlusses (23) vorgesehenen Vertiefung angeordnet ist.

20. Objektträger nach einem der Ansprüche 17 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß der Kammerabschluß (23) Aufnahmehöffnungen (31) hat, in die zusätzliche Sensoren (32) mit Sensorhaltern lösbar einsetzbar, vorzugsweise einschraubar oder einsteckbar sind.

21. Objektträger nach einem der Ansprüche 17 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß die Planar-Sensoren (6 bis 12) an einer der Kammer (27) zugewandten Wandung des Kammerabschlusses (23) vorgesehen sind.

22. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß zum Verschließen nicht benötigter Aufnahmehöffnungen (31) Verschlußstopfen vorgesehen sind.

23. Objektträger nach einem der Ansprüche 17 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) einen am Umfang des Aufnahmehbereiches (2) umlaufenden, nach oben überstehenden Halterand (22) aufweist, der eine bis zum Aufnahmehbereich (2) reichende Öffnung umschließt, und daß der Kammerabschluß (23) lösbar in die Öffnung einsetzbar ist.

24. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (1) als rechteckige Scheibe ausgebildet ist und daß der Aufnahmehbereich (2) an einer Flachseite (4) der Scheibe vorgesehen ist.

25. Objektträger nach Anspruch 23, dadurch 1 gekennzeichnet, daß an dem Objektträger (1), vorzugsweise an dessen Oberseite, benachbart zu den schmalseitigen Rändern, wenigstens eine Aufnahmevertiefung (34) zum Einsetzen eines Kontaktstückes vorgesehen ist.

26. Objektträger nach einem der Ansprüche 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß der Aufnahmehbereich (2) zur Kultivierung nicht-adhärenter Zellen eine Oberflächenstruktur, insbesondere eine Lamellen- oder Gitter-

11

12

struktur, aufweist.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig. 1

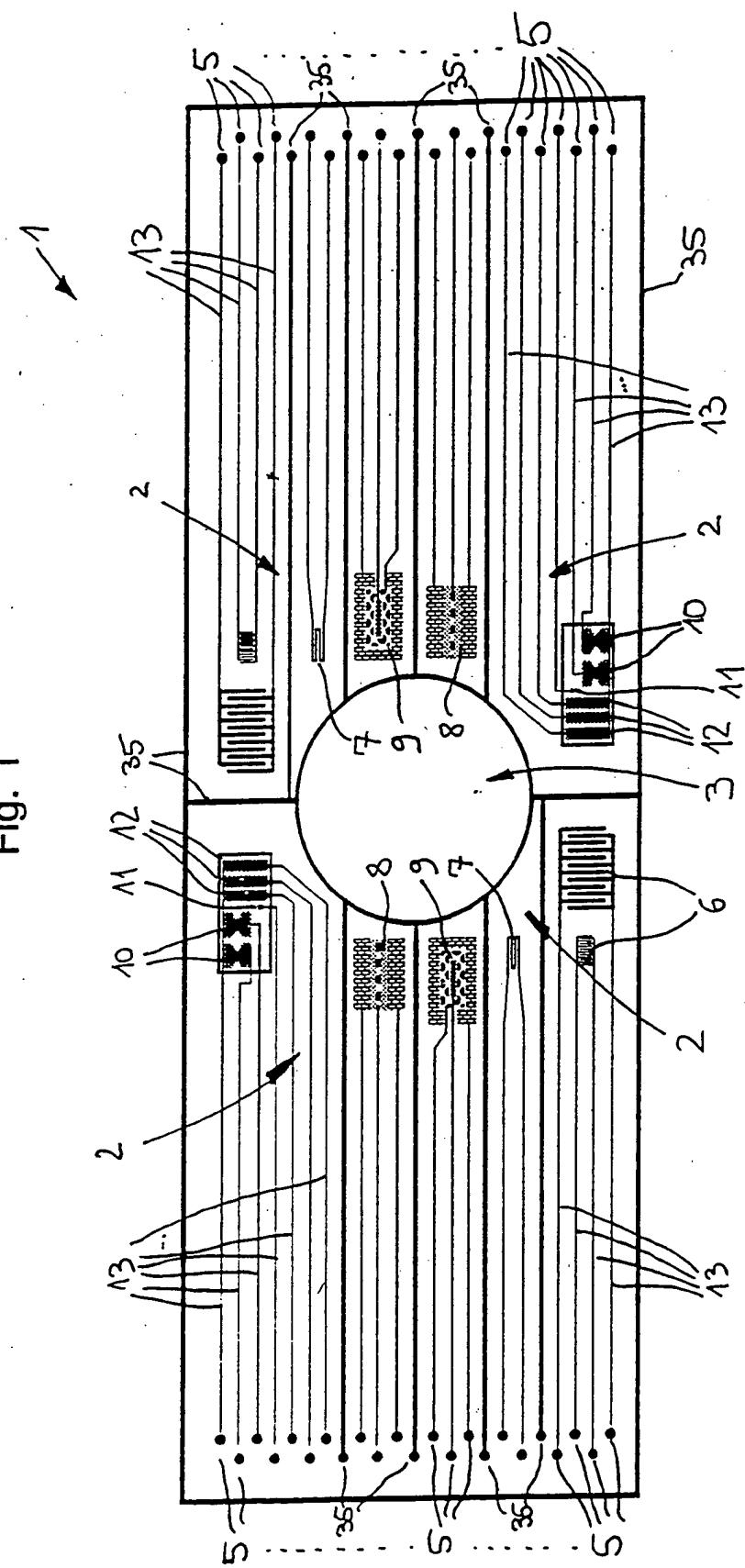


Fig. 2

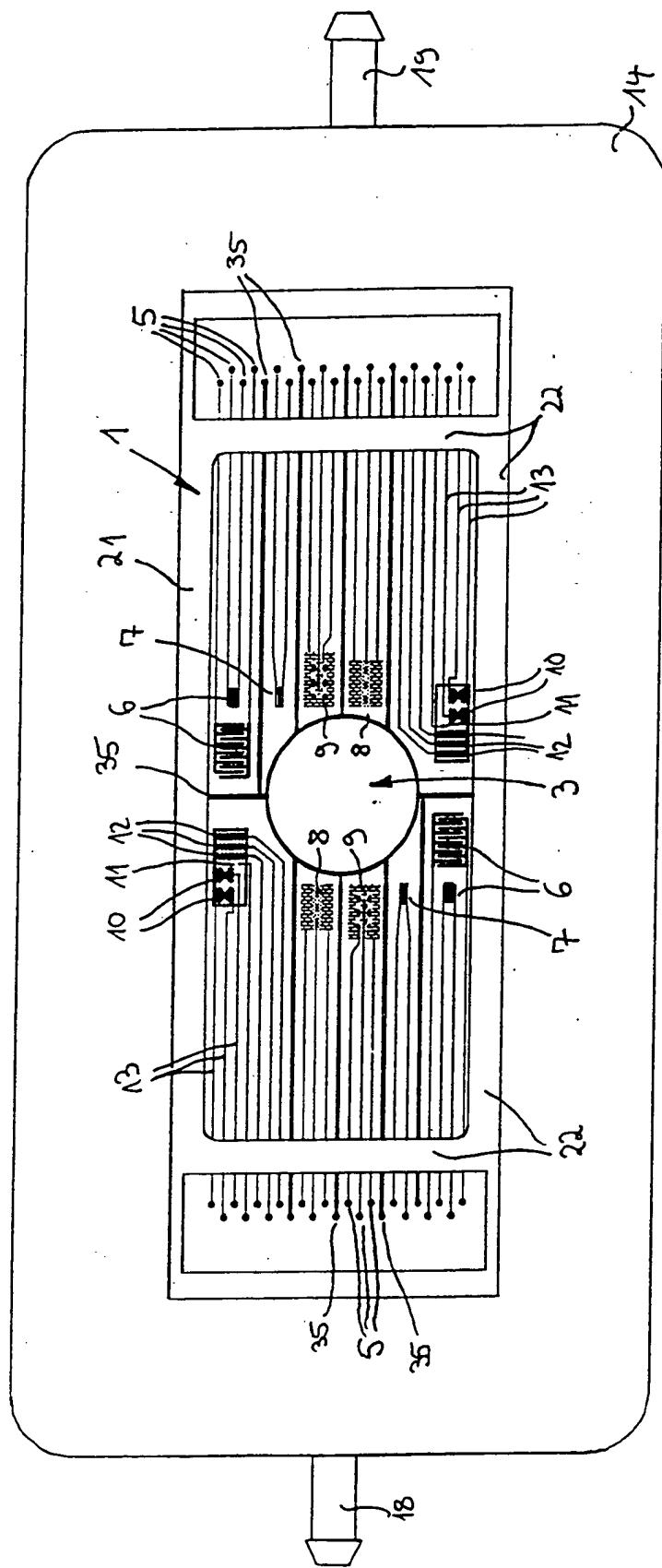


Fig. 3

